

Revisions

SO 0191-5

Rev from	Rev to	ECO #
0703	0704	2943-04

Notes:

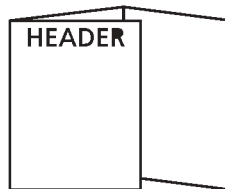
- BD Cat. Number Various
- Blank (Sheet) Size : Length: 18" Width: 36"
 Number of Pages: 12 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 18" Width 6" Final Folded Size: 2.25" x 4"
- Style (see illustrations below): # 4



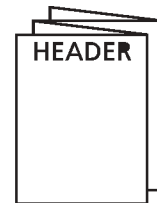
#1



#2



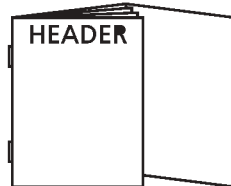
#3



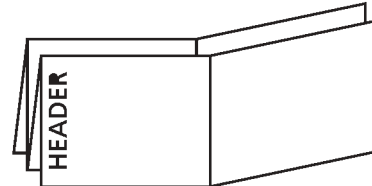
#4



#5



#6



#7

- See Specification Control No. 8810131 for Material Information.
- Ink Colors: Printed two sides ☒ Yes ☐ No
 No. of Colors: 1 PMS #2755 Blue
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	 Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: 8810131		Category and Description Package Insert, Febrile Antigens	Sheet: 1 of 13	A
			Scale:	

BD Febrile Antigens for Febrile Antigen Agglutination Tests

English: pages 1 – 3 **Italiano:** pagine 7 – 9
Français : pages 3 – 5 **Español:** páginas 10 – 12
Deutsch: Seiten 5 – 7



8810131
2004/07

See symbol glossary at end of insert. / Viz popis symbolů na konci příbalového letáku. / Se symbolglossaret i slutningen af indlæggssedlen. / Zie lijst met symbolen aan het einde van de bijsluiter. / Vaadake sümboleite seletust infolehe lõpus. / Kato pakkauslesteen lopussa olevaa kuvamerkkien sanastoa. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Δείτε το γλωσσάριο των συμβόλων στο τέλος του ένθετου. / A jelmagyarázat a használati utasítás végén található. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Žr. informacinio lapelio pabaigoje pateikiamą simbolių glossarijų. / Se i symbolforklaringen på slutten av produktvedlegget. / Zobacz objaśnienie symboli na końcu ulotki. / Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo. / Pozri slovník symbolov na konci letáka. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto. / Se symbolförteckningen vid slutet av bipacksedeln.

Pokyny vám poskytne miestní zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőtől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar.

INTENDED USE

Febrile Antigens are used in agglutination tests as an aid in the diagnosis of certain febrile diseases such as salmonellosis, brucellosis and rickettsial diseases. The patient's serum is tested directly for homologous antibodies by either a slide or tube agglutination test. These tests are qualitative and semi-quantitative. The rapid slide test is used primarily as a screening procedure especially useful when large numbers of sera must be examined. The tube test should be used to confirm positive results obtained by the slide test.

Febrile Control Antisera are used in agglutination tests in conjunction with Febrile Antigens as positive or negative controls.

SUMMARY AND EXPLANATION

Febrile antigen tests are serological applications of the classical Widal reaction devised for the diagnosis of typhoid fever and the Weil-Felix reactions where antigens prepared from a *Proteus* organism are used to detect related rickettsial antibodies.^{1,2}

Serological diagnosis of patients suspected of having infectious diseases characterized by persistent fever is dependent upon demonstration of an agglutination reaction between the appropriate antigen and the patient's serum.

The natural response to the invasion by pathogenic organisms is the production of antibodies. This immune response is highly individualized and in addition to the host's physiological status and genetic capabilities, a number of other factors are involved with the production of antibodies to a particular stimulus. These include the antigenicity of the organism, the total amount introduced to the host and the route of introduction, and whether the host has had previous exposure to the organism. These factors will determine the rate of antibody formation, the amount of antibodies produced and their persistence in the circulatory system.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

When the human body is invaded by any pathogenic microbiological agent, a variety of antibodies are formed. Among these antibodies are the agglutinins. Serum containing specific agglutinins in combination with homologous antigens under properly controlled conditions is capable of causing a visible agglutination. The degree to which agglutination occurs depends upon the concentration of the antigen, the number of antibodies present, the composition of the salt solution and the temperature.¹

Sera from normal patients may show positive agglutination with febrile antigens due to previous immunization, past infection or the presence of antibodies to related antigens. In general, the titers found in these instances will be lower and remain at a constant level. Titers detected as a result of active infection or recent immunization with an organism containing homologous antigens will usually be higher and tend to rise over a period of time.

It is, therefore, necessary to evaluate two or more serum samples taken at 3- to 5-day intervals after the onset of the disease. A progressive increase in titer is the prime evidence of recent infection or immunization.³

REAGENTS

Febrile Antigen Set Contains Febrile Antigens:

Salmonella O Group D (9-12) (Typhoid O)
Salmonella Flagellar Group a
Salmonella Flagellar Group b
Salmonella Flagellar Group d (Typhoid H)
Brucella abortus
Proteus OX19

Control Antisera:

Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A, B, D)
Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a, b, d)
Brucella Positive Control Antiserum (AMS)
Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2, OX19)
Febrile Antigen Negative Control

Febrile Antigens are nonviable bacterial cells in 0.5% phenolized saline with added crystal violet, brilliant green and chemical stabilizers. The Salmonella Flagellar Antigens (Cat. No. 240785, 240834, 240835) and Francisella Tularensis Antigen (Cat. No. 241050) contain 0.5% formaldehyde in place of the phenol.

Febrile Control Antisera are preparations of rabbit antiserum with 30% - 50% glycerin as preservative.

Febrile Antigen Negative Control is Bovine Albumin (2.5%) with 50% glycerin as preservative.

Warnings and Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use.

The Packaging of This Product Contains Dry Natural Rubber.

Warning: May cause sensitization by skin contact. Avoid contact with skin. Wear suitable gloves. If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.

Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"⁴⁻⁷ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids. Prior to discarding, sterilize specimen containers and other contaminated materials by autoclaving.

Storage Instructions: On receipt, store at 2 to 8°C. Febrile Antigens are ready for use as supplied. Do not open until ready to use. Control sera are ready for use as supplied. Protect from evaporation and contamination. The expiration date on each vial applies to product in intact container stored as directed.

SPECIMEN COLLECTION

Using aseptic techniques, collect 5 - 10 mL of blood in a blood tube without anticoagulant (i.e. **Vacutainer™** Brand Glass Evacuated Tube). This type of tube is recommended because the collection, clotting and centrifugation of the specimen can all be done without transferring the blood. Allow the blood to clot for 20 to 30 min. Loosen the clot from the side of the container with a clean glass rod or applicator stick, stopper the tube and centrifuge. Draw off the serum and refrigerate at 2 to 8°C until testing, or immediately freeze the serum at -15°C or below if the test is delayed more than 4 h.

PROCEDURE

Materials Provided: Depending upon which product is ordered, one or more of the products listed under "Availability" is provided.

Materials Required But Not Provided:

- 3" x 6" glass slide (circled)
- Pipettes
- Toothpicks, glass rods or other applicator sticks
- Rotary shaker
- 0.85% saline
- Water bath (37 ± 1°C, 49 ± 1°C)
- Refrigerator (2 - 8°C)
- Tubes

Test Procedure

NOTE: ALL MATERIALS AND EQUIPMENT MUST BE AT ROOM TEMPERATURE AT THE TIME OF TEST PERFORMANCE.

Directions for use should be followed carefully.

Slide Test

- Dispense serum (patient or control) onto slides. Use 3" x 6" (circled). Dispense serum samples into separate circles as follows:

Circle	Serum
1	0.08 mL
2	0.04 mL
3	0.02 mL
4	0.01 mL
5	0.005 mL

- Invert the bottle several times to mix antigen.
- Add one drop of antigen to each circle using the dropper supplied with the vial.
- Using a new toothpick or applicator for each circle, mix antigen and serum.
- Rock the slide for 1 min near a light source and observe for agglutination.
- Repeat steps 1 through 5 for each antigen.

Tube Test

- Prepare dilutions of patient and control sera.

Patient Sera

- Add 0.5 mL of 0.85% saline to each of 8 tubes.
- Place 0.8 mL of saline in a separate tube and add 0.2 mL of serum. Mix well with a separate pipette and add 0.5 mL from this tube to the first tube of 8 tubes prepared in step "a".
- Using a clean pipette for each patient serum, mix and transfer 0.5 mL from tube 1 to tube 2 and serial dilute through tube 7. Discard 0.5 mL from tube 7. Tube 8 is the antigen control.

Note: Reading References may be set up as described in step 3 of RESULTS, "Reading References."

Control Sera

Prepare serial dilutions of the control sera in 0.5 mL amounts in tubes in the following manner:

- Place 8 tubes in a rack for each serum to be tested.
 - Pipette 0.9 mL of 0.85% saline into the first tube of each row and 0.5 mL into each of the remaining tubes.
 - Add 0.1 mL of the serum to the first tube containing 0.9 mL of saline solution.
 - Mix well with a pipette and transfer 0.5 mL of the first tube to the second tube. Mix thoroughly.
 - Continue carrying the 0.5 mL of the serum dilution through tube 7. Discard 0.5 mL from tube 7 after mixing thoroughly. Tube 8 is the antigen control tube.
- Prepare Antigen Dilutions
 - Dilute Brucella, Salmonella, Proteus and Francisella antigens to one part antigen in forty-nine parts 0.85% saline (1:50), e.g., 0.25 mL antigen and 12.25 mL saline.
 - Mix Antigen and Serum

Add 0.5 mL of diluted antigen to each tube containing patient sera or control sera, as well as to the antigen control tube. Shake tubes for a period of 10 sec. The resultant dilutions are 1:20 through 1:1280, respectively.

4. Incubate.

Antigen	Incubation
Salmonella O Group A Salmonella O Group B	18 to 24 h in a 48 to 50°C water bath
Salmonella O Group D Salmonella Flagellar a Salmonella Flagellar b Salmonella Flagellar d	16 to 18 h in a 48 to 50°C water bath
Brucella abortus Brucella melitensis Brucella suis	48 h in a 37°C water bath
Proteus OX19 Proteus OX2 Proteus OXK	Two h in a 37°C water bath followed by overnight refrigeration at 2 to 8°C
Francisella tularensis	20 h in a 37°C water bath

User Quality Control

At time of use, apply both positive and negative antisera controls to check performance of the antigens, techniques and methodology.

The use of Francisella tularensis Antiserum (Cat. No. 240939) can aid in the control of both positive results with Francisella tularensis Antigen and cross reactions, especially with Brucella abortus Antigen.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

Slide test

1. Record Agglutination

Degree of Agglutination		
100 %	background clear to slightly hazy	4+
75 %	background slightly cloudy	3+
50 %	background moderately cloudy	2+
25 %	background cloudy	1+
None		Negative

2. Determination of Antibody Titer

The titer is the reciprocal of the highest dilution producing 2+ agglutination.

Serum, mL	Correlation Dilution
0.08	1:20
0.04	1:40
0.02	1:80
0.01	1:160
0.005	1:320

Tube Test

1. Record Agglutination

Very gently agitate each tube and record agglutination as follows:

100 %	Clear liquid above agglutinins	4+
75 %	Slightly cloudy	3+
50 %	Moderately cloudy	2+
25 %	Cloudy	1+
Negative	Very cloudy with no agglutinins	

2. Measure Titer

The titer is the reciprocal of the highest final dilution producing a 2+ agglutination.

Tube Number	Dilution
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280

3. Reading References

The following Reading References table will be helpful in determining how the liquid portion of the tube test should appear for differing degrees of agglutination. This is for the liquid portion only.

Antigen, mL	Saline, mL	Liquid Reading
0.5 mL	0.5 mL	Negative
0.25 mL	0.75 mL	2+
0.125 mL	0.875 mL	3+

NOTE: If auto-agglutination of the antigen is suspected, prepare the "Reading References" mixtures exactly as indicated above. Agglutinated material in any or all of the tubes indicates that the antigen is unstable and should be discarded.

As in other agglutination tests, no single test or determination can be considered diagnostic. Many variables are involved (See "Limitations of the Procedure"). However, a fourfold rise in antibody titer demonstrable in paired acute and convalescent phase sera collected at approximately five-day intervals is strongly suggestive of a specific presumptive diagnosis. The chart below gives an approximate indication of the significance of serum titers.³

Serum Agglutinins				
Disease	Febrile Antigen	Appear	Maximum	Titer and Significance
Typhoid Fever	Salmonella O Group D	7 to 10 days	3 to 5 weeks	1:80† (in early stages) = suspicious 1:160† and rising = strongly suggestive
	Salmonella Flagellar d	later	later	1:40* = suspicious 1:160* = strongly suggestive
Paratyphoid Fever and other Salmonella Infections	Salmonella Flagellar a Salmonella Flagellar b Salmonella O Group A Salmonella O Group B	Those characterized by prolonged fever and typhoid-like symptoms present antibodies of titers similar to above; lower titers may be more significant depending on the prevalence of a particular <i>Salmonella</i> species.		
Tularemia	Francisella tularensis	7 to 14 days	4 to 8 weeks	1:160 = strongly suggestive
Typhus Fevers	**Proteus OX19	7 to 10 days	by 14th day	1:40 to 1:80 early = suspicious 1:160 = strongly suggestive
Rocky Mountain Spotted Fever	**Proteus OX19	7 to 10 days	by 14th day	peak titers usually not above 1:160 to 1:320
Brucellosis	Brucella abortus	2 to 3 weeks	3 to 5 weeks	1:80 to 1:160 = strongly suggestive

†May be higher in vaccinated individuals

*Much higher in vaccinated individuals

**The Weil-Felix reactions that occur in rickettsial disease are shown in the chart below:

Disease	Proteus OX19	Proteus OX2	Proteus OXK
Epidemic typhus	4+	1+	0
Murine typhus	4+	1+	0
Scrub Typhus	0	0	3+
Spotted fever group	4+ or 1+	1+ or 3+	0
Q fever	0	0	0
Rickettsialpox	0	0	0

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Prozone reactions are possible. Care should be taken to observe agglutination at the highest dilutions if no clumping is seen in lower dilutions.

Patients occasionally fail to develop any serum agglutinins.

In certain geographic regions and occupations, typhoid fever, *Salmonella* and *Brucella* are endemic and a high level of natural agglutinins may be present.

Cross reactions may occur between Brucella and Francisella antigens and antisera. Therefore, parallel tests should be run with those antigens. Generally a higher titer is obtained with the homologous antigen.

Cross reactions, previous vaccinations, anamnestic responses,⁸ antibiotic therapy, other diseases known or unknown, prozones, and autoagglutinations, as well as other factors, may affect these tests.

Consider the stage of disease when the specimen is collected. It is possible that peak titers occur only during convalescence. During infection, agglutinins to Salmonella O antigens usually appear earlier and disappear sooner than agglutinins to the H antigens.

Weil-Felix reactions may vary widely from case to case of spotted fever and therefore may be of little help in either detecting the disease or differentiating it from murine typhus.⁹

For more complete information, consult appropriate references.⁹⁻¹¹

These products are not intended as a substitute for culture. An appropriate attempt should be made to recover and identify the etiologic organism.

Only the product catalog numbers listed in this insert are to be used together. Do not use with other product catalog numbers.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. The positive control antisera should produce 2+ or greater agglutination at 1:80 in the slide or tube test when tested with the corresponding homologous febrile antigens.

Febrile Antigen	Homologous Control Antiserum
Salmonella O Group A	Salmonella Somatic Polyvalent
Salmonella O Group B	
Salmonella O Group D	
Salmonella O Flagellar a	Salmonella Flagellar Polyvalent
Salmonella O Flagellar b	
Salmonella O Flagellar d	
Brucella abortus	Brucella Positive Control
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	Proteus Polyvalent Control
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	Francisella tularensis

2. The negative control should show no agglutination with any of the Febrile Antigens.
- Sensitivity of the Febrile Antigens is determined by demonstrating appropriate reactivity in both the slide and tube tests, as defined in the “Results” section, using the respective homologous Febrile Control Antisera. Specificity of the Febrile Antigens is determined by demonstrating non-reactivity against non-related (heterologous) Febrile Control Antisera.

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
240786	Febrile Antigen Set, one set of 11 vials.
Febrile Antigens	
240731	Salmonella O Group A Antigen (1-2-12), one 5 mL vial.
240732	Salmonella O Group B Antigen (1-4-5-12), one 5 mL vial.
240734	Salmonella O Group D Antigen (9-12) (Typhoid O), one 5 mL vial.
240834	Salmonella Flagellar a Antigen, one 5 mL vial.
240835	Salmonella Flagellar b Antigen, one 5 mL vial.
240785	Salmonella Flagellar d Antigen (Typhoid H), one 5 mL vial.
241049	Brucella abortus Antigen, one 5 mL vial.
240943	Brucella melitensis Antigen, one 5 mL vial.
240944	Brucella suis Antigen, one 5 mL vial.
240782	Proteus OX19 Antigen, one 5 mL vial.
240783	Proteus OX2 Antigen, one 5 mL vial.
240784	Proteus OXK Antigen, one 5 mL vial.
241050	Francisella tularensis Antigen, one 5 mL vial.

Febrile Control Antisera	
240941	Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A,B,D), one 5 mL vial.
240942	Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a,b,d), one 5 mL vial.
240934	Brucella Positive Control Antiserum (AMS), one 5 mL vial.
240940	Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2,OX19), one 5 mL vial.
240939	Francisella tularensis Antiserum, one 5 mL vial.
240937	Febrile Antigen Negative Control, one 5 mL vial.

REFERENCES

- Davidsohn, I, and J.B. Henry (ed.). 1969. Todd-Sanford clinical diagnosis by laboratory methods, 14th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Schubert, J.H., L. Holdeman, and D.S. Martin. 1954. J. Lab. Clin. Med. 44:194.
- Sonnenwirth, A.C. 1970. Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis, 7th ed., p. 1482. The C.V. Mosby Co., St. Louis.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
- Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
- U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament of of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
- Foomen, J., and H.R. Morgan. 1954. Amer. J. Med. Soc. 228:520.
- Ormsbee, R.A. 1985. Rickettsiae, p. 845-855. In E.H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler, Jr., and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Kolmer, J.A., E.H. Spaulding, and H.W. Robinson. 1951. Approved laboratory technic, 5th ed. Appleton Century-Crofts, New York.
- Sack, R.B. 1986. Serologic tests for the diagnosis of enterobacterial infections, p. 359-362. In N.R. Rose, H. Friedman, and J.L. Fahey (ed.), Manual of clinical laboratory immunology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

BD Febrile Antigens for Febrile Antigen Agglutination Tests

Français

APPLICATION

Les Febrile Antigens (antigènes fébriles) s'utilisent dans des tests d'agglutination et aident au diagnostic de certaines maladies fébriles comme la salmonellose, la brucellose et la rickettsiose. Le sérum des patients est testé directement pour la présence d'anticorps homologues avec un test sur lame ou un test d'agglutination en tube. Ces tests sont qualitatifs et semi-quantitatifs. Le test rapide sur lame s'utilise principalement comme procédure de dépistage et est particulièrement utile lorsque de grandes quantités de sérums doivent être examinées. L'essai en tube doit s'utiliser pour confirmer les résultats positifs obtenus avec le test sur lame.

Les sérums anti-fébriles de contrôle s'utilisent dans des tests d'agglutination avec les Febrile Antigens en qualité de témoins positifs ou négatifs.

RESUME ET EXPLICATION

Les tests d'antigènes fébriles sont des applications sérologiques de la réaction classique de Widal, conçue pour effectuer un diagnostic de la fièvre typhoïde, et des réactions Weil-Felix où les antigènes préparés à partir de microorganismes *Proteus* s'utilisent pour détecter les anticorps apparentés de la rickettsiose.^{1,2}

Le diagnostic sérologique des patients soupçonnés d'avoir des maladies infectieuses caractérisées par une fièvre persistante dépend de la démonstration d'une réaction d'agglutination entre l'antigène approprié et le sérum des patients.

La production d'anticorps constitue une réponse naturelle à l'invasion par des microorganismes pathogéniques. La réponse immunitaire est très individualisée et en plus du statut physiologique de l'hôte et de ses capacités génétiques, de nombreux autres facteurs participent à la production d'anticorps contre un stimulus. Ceux-ci comprennent l'antigénicité du microorganisme, la quantité totale introduite dans l'hôte et la voie d'introduction ainsi que l'exposition préalable ou non au microorganisme. Ces facteurs détermineront la vitesse de formation des anticorps, la quantité d'anticorps produite et leur persistance dans le système circulaire.

PRINCIPES DE LA METHODE

Divers anticorps se forment lorsque le corps humain est envahi par tout agent microbiologique pathogène. Les agglutinines sont présentes parmi ces anticorps. Un sérum contenant des agglutinines spécifiques en association avec des antigènes homologues dans des conditions bien contrôlées, est capable de causer une agglutination visible. Le degré d'agglutination dépend de la concentration de l'antigène, du nombre d'anticorps présents, de la composition de la solution salée et de la température.¹

Les sérums de patients normaux présentent une agglutination positive avec des antigènes fébriles du fait d'une immunisation préalable, d'une infection passée ou de la présence d'anticorps des antigènes apparentés. Généralement, les titres trouvés dans ces cas-là seront inférieurs et resteront à un niveau constant. Les titres détectés suite à une infection active ou à une immunisation récente avec un microorganisme contenant des antigènes homologues, seront habituellement plus élevés et auront tendance à s'élever dans le temps.

Il est donc nécessaire d'évaluer deux échantillons de sérum ou plus prélevés à des intervalles de 3 à 5 jours après le début de la maladie. Une augmentation progressive des titres constitue la principale preuve d'une infection récente ou d'une immunisation.³

REACTIFS

Le Febrile Antigen Set (module d'antigènes fébriles) contient des Febrile Antigens :

Salmonella O groupe D (9-12) (Typhoïde O)
Salmonella flagellaire groupe a
Salmonella flagellaire groupe b
Salmonella flagellaire groupe d (typhoïde H)
Brucella abortus
Proteus OX19

Antisérums témoins :

Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A, B, D)
Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a, b, d)
Brucella Positive Control Antiserum (AMS)
Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2,OX19)
Témoin négatif de Febrile Antigen

Les Febrile Antigens sont des cellules bactériennes non viables dans une solution saline au phénol à 0,5 % additionnée de cristal violet, de vert brillant et de stabilisants chimiques. Les antigènes flagellaires de la Salmonella (n° réf. 240785, 240834, 240835) et l'antigène du Francisella Tularensis (n° réf. 241050) contient 0,5 % de formaldéhyde à la place du phénol.

Les sérums témoins anti-fébriles sont des préparations d'antisérum de lapin contenant 30 à 50 % de glycérine en conservateur.

Le témoin négatif du Febrile Antigen est une albumine bovine (2,5 %) contenant 50 % de glycérine en conservateur.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Avertissement : Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Eviter le contact avec la peau. Porter des gants appropriés. En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les " Précautions standard "⁴⁻⁷ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Stériliser à l'autoclave les récipients contenant les échantillons et d'autres matériaux contaminés avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver entre 2 et 8 °C. Les Febrile Antigens sont prêts à l'utilisation. Ne pas ouvrir prématurément. Les sérums témoins sont prêts à l'utilisation. Protéger contre l'évaporation et la contamination. La date de péremption inscrite sur chaque flacon s'applique au produit conservé dans le récipient intact et dans les conditions préconisées.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

À l'aide de techniques aseptiques, prélever de 5 à 10 mL de sang dans un tube à sang sans anticoagulant (c.-à-d. un tube à vide en verre de la marque **Vacutainer**). Ce type de tube est recommandé parce que le prélèvement, la coagulation et la centrifugation de l'échantillon peuvent être effectués sans transférer le sang. Laisse le sang se coaguler pendant 20 à 30 min. Détacher le caillot de la paroi interne du récipient avec une tige en verre propre ou un écouvillon, boucher le tube et centrifuger. Prélever le sérum et réfrigérer entre 2 et 8 °C jusqu'au moment du test ou congeler immédiatement le sérum à -15 °C ou une température inférieure si le test est retardé de plus de 4 h.

METHODE

Matériaux fournis : Selon le produit commandé, un produit ou plus sont fournis parmi ceux listés sous " Disponibilité ".

Matériaux requis mais non fournis :

- lame en verre (cerclée) de 7,5 x 15 cm
- pipettes
- cure-dents, tiges en verre ou écouvillons
- agitateur rotateur
- solution saline à 0,85 %
- bain-marie (37 ± 1 °C, 49 ± 1 °C)
- réfrigérateur (de 2 à 8 °C)
- tubes

Mode opératoire du test

REMARQUE : TOUS LES MATERIELS ET LES EQUIPEMENTS DOIVENT ETRE A TEMPERATURE AMBIANTE AU MOMENT OU LE TEST EST EFFECTUE.

Respecter scrupuleusement le mode d'emploi.

Test sur lame :

1. Distribuer le sérum (patient ou témoin) sur les lames. Utiliser les lames (cercleées) de 7,5 x 15 cm. Distribuer les échantillons de sérum sur des zones de test séparées comme suit :

Cercle	Sérum
1	0,08 mL
2	0,04 mL
3	0,02 mL
4	0,01 mL
5	0,005 mL

2. Inverser le flacon plusieurs fois pour mélanger l'antigène.
3. Ajouter une goutte d'antigène à chaque zone de test à l'aide du compte-gouttes fourni avec le flacon.
4. Mélanger l'antigène et le sérum à l'aide d'un nouveau cure-dents ou d'un écouvillon pour chaque zone de test.
5. Agiter la lame pendant une minute près d'une source de lumière et observer pour voir si une agglutination se produit.
6. Répéter les étapes 1 à 5 pour chaque antigène.

Essai en tube :

1. Préparer des dilutions du sérum des patients ou du sérum témoin.

Sérums des patients

- a. Ajouter 0,5 mL de solution saline à 0,85 % à chacun des huit tubes.
b. Placer 0,8 mL de solution saline dans un tube séparé et ajouter 0,2 mL de sérum. Bien mélanger avec une pipette séparée et ajouter 0,5 mL prélevé dans ce tube au premier des huit tubes préparés à l'étape " a ".
c. À l'aide d'une pipette propre pour chaque sérum de patient, mélanger et transférer 0,5 mL du tube 1 au tube 2 et diluer en série jusqu'au tube 7. Jeter 0,5 mL du tube 7. Le tube 8 est le témoin antigène.

Remarque : Des références de lecture peuvent être mises en place comme décrit à l'étape 3 de la section RESULTATS, " Références de lecture ".

Sérums témoins

Préparer, dans des tubes, des dilutions en série des sérums témoins de 0,5 mL de la façon suivante :

- a. Placer huit tubes dans un portoir pour chaque sérum à tester.
b. Pipeter 0,9 mL de solution saline à 0,85 % dans le premier tube de chaque rangée et 0,5 mL dans chacun des tubes restants.
c. Ajouter 0,1 mL du sérum dans le premier tube contenant 0,9 mL de solution saline.
d. Bien mélanger avec une pipette et transférer 0,5 mL du premier tube dans le second. Bien mélanger.
e. Continuer à transférer 0,5 mL de la dilution du sérum jusqu'au tube 7. Jeter 0,5 mL du tube 7 après avoir bien mélangé. Le tube 8 est le tube témoin antigène.
2. Préparer les dilutions de l'antigène
a. Diluer les antigènes de Brucella, Salmonella, Proteus et Francisella à une partie d'antigène dans quarante-neuf parties de solution saline à 0,85 % (1/50), ex. 0,25 mL d'antigène et 12,25 mL de solution saline.

3. Mélanger l'antigène et le sérum

Ajouter 0,5 mL d'antigène dilué dans chaque tube contenant du sérum de patients ou du sérum témoin, ainsi que dans le tube témoin antigène. Agiter les tubes pendant une période de 10 sec. Les dilutions résultantes sont respectivement de 1/20 à 1/1280.

4. Incuber.

Antigène	Incubation
Salmonella O groupe A	18 à 24 h dans un bain-marie entre 48 et 50 °C
Salmonella O groupe B	
Salmonella O groupe D	16 à 18 h dans un bain-marie entre 48 et 50 °C
Salmonella flagellaire a	1 h dans un bain-marie entre 48 et 50 °C
Salmonella flagellaire b	
Salmonella flagellaire d	
Brucella abortus	48 h dans un bain-marie à 37 °C
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	2 h dans un bain-marie à 37 °C suivi par une réfrigération toute la nuit entre 2 et 8 °C
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	20 h dans un bain-marie à 37 °C

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Tester dans la même série les témoins antisérum positifs et négatifs pour contrôler les performances des antigènes, des techniques et de la méthodologie.

L'utilisation du sérum anti-Francisella tularensis (n° réf. 240939) peut aider au contrôle à la fois des résultats positifs avec l'antigène de Francisella tularensis et les réactions croisées, particulièrement avec l'antigène de Brucella abortus.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives de la NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

Test sur lame

1. Lire l'agglutination

Degré d'agglutination		
100 %	fond clair à légèrement voilé	4+
75 %	fond légèrement trouble	3+
50 %	fond moyennement trouble	2+
25 %	fond trouble	1+
Pas d'agglutination		Négatif

2. Détermination du titre d'anticorps

Le titre est l'inverse de la dilution la plus élevée produisant une agglutination de 2+.

Sérum, mL	Dilution de corrélation
0,08	1/20
0,04	1/40
0,02	1/80
0,01	1/160
0,005	1/320

Essai en tube

1. Lire l'agglutination

Agiter très doucement chaque tube et lire l'agglutination comme suit :

100 %	Eclaircir le liquide au-dessus des agglutinines	4+
75 %	Légèrement trouble	3+
50 %	Moyennement trouble	2+
25 %	Trouble	1+
Négatif	Très trouble avec absence d'agglutinine	

2. Mesurer le titre

Le titre est l'inverse de la dilution finale la plus élevée produisant une agglutination de 2+.

Numéro de tube	Dilution
1	1/20
2	1/40
3	1/80
4	1/160
5	1/320
6	1/640
7	1/1280

3. Références de lecture

Le tableau des références de lecture suivantes servira à déterminer comment la partie liquide de l'essai en tube apparaît à des degrés d'agglutination différents. Ceci s'applique seulement à la partie liquide.

Antigène, mL	Solution saline, mL	Lecture du liquide
0,5 mL	0,5 mL	Négatif
0,25 mL	0,75 mL	2+
0,125 mL	0,875 mL	3+

REMARQUE : Si une auto-agglutination de l'antigène est présumée, préparer les mélanges des " Références de lecture " exactement comme indiqué ci-dessus. Le matériel agglutiné dans l'un des tubes indique que l'antigène est instable et devrait être jeté.

Comme avec tout autre test d'agglutination, aucun test ou détermination unique ne peut constituer un diagnostic. Plusieurs variables sont impliquées (voir " Limites de la procédure "). Cependant, une multiplication par quatre du titre d'anticorps évidente dans des sérums d'infection aiguë et de convalescence analysés par paires à environ 5 jours d'intervalle, suggère fortement un diagnostic présomptif spécifique. Le tableau ci-dessous donne une indication approximative de la signification des titres de sérum.³

Agglutinines de sérum				
Maladie	Antigène fébrile	Apparence	Maximum	Titre et signification
Fièvre typhoïde	Salmonella O groupe D	7 à 10 jours	3 à 5 semaines	1/80† (à un stade précoce) = suspicieux 1/160† et augmentant = fortement suggestif
	Salmonella flagellaire d	plus tard	plus tard	1/40* = suspicieux 1/160* = fortement suggestif
Fièvre paratyphoïde et autres infections à Salmonella	Salmonella flagellaire a Salmonella flagellaire b Salmonella O groupe A Salmonella O groupe B	Celles caractérisées par une fièvre prolongée et des symptômes semblables à ceux de la typhoïde présentent des anticorps de titres similaires à ce qui précède ; des titres peuvent être significatifs en fonction de la prévalence d'espèces particulières de <i>Salmonella</i> .		
Tularemia	Francisella tularensis	7 à 14 jours	4 à 8 semaines	1/160* = fortement suggestif
Fièvres typhoïdes	**Proteus OX19	7 à 10 jours	avant le 14e jour	1/40 à 1/80 précoce = suspicieux 1/160* = fortement suggestif
Fièvre pourprée des montagnes rocheuses	**Proteus OX19	7 à 10 jours	avant le 14e jour	Titres maximum non supérieur à une valeur de 1/160 à 1/320
Brucellose	Brucella abortus	2 à 3 semaines	3 à 5 semaines	1/80 à 1/160 = fortement suggestif

†Peut être supérieur chez des individus vaccinés

*Très supérieur chez des individus vaccinés

** Les réactions de Weil-Felix se produisant dans la rickettsiose sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Maladie	Proteus OX19	Proteus OX2	Proteus OXK
Typhus épidémique	4+	1+	0
Typhus murin	4+	1+	0
Typhus des broussailles	0	0	3+
Groupe des fièvres exanthématiques	4+ ou 1+	1+ ou 3+	0
Fièvre Q	0	0	0
Rickettsiose vésiculeuse	0	0	0

LIMITES DE LA PROCEDURE

Des réactions avec effet de prozone sont possibles. Il convient d'observer l'agglutination avec attention pour les dilutions les plus élevées si aucun agrégat ne se forme dans les dilutions plus faibles.

Les patients peuvent parfois ne pas développer d'agglutinines de sérum.

Dans certaines régions géographiques et pour certaines professions, la fièvre typhoïde, la *Salmonella* et la *Brucella* sont endémiques et un niveau élevé d'agglutinines peut être présent.

Des réactions croisées peuvent se produire entre les antigènes et les antisérums de la Brucella et de la Francisella. Des tests parallèles doivent donc être effectués avec ces antigènes. Généralement un titre plus élevé est obtenu avec l'antigène homologue.

Des réactions croisées, des vaccinations préalables, des réponses anamnestiques⁸, un traitement antibiotique, d'autres maladies connues ou non, des prozones et des auto-agglutinations, ainsi que d'autres facteurs, peuvent influencer ces tests.

Il convient de prendre en considération le stade de la maladie lorsque l'échantillon est prélevé. Il est possible que des titres maximum se produisent durant la convalescence. Pendant une infection, les agglutinines des antigènes de la Salmonella O apparaissent habituellement plus tôt et disparaissent avant les agglutinines des antigènes H.

Les réactions de Weil-Felix peuvent beaucoup varier au cas par cas pour une fièvre exanthématique et donc ne pas être très utiles pour détecter la maladie ou pour la différencier du typhus murin⁹.

Pour obtenir des informations plus complètes, consulter les références appropriées⁹⁻¹¹.

Ces produits ne sont pas prévus comme un substitut de culture. Il convient de tenter d'isoler et d'identifier le microorganisme étiologique.

Seules les références de produits listés dans cette notice sont à utiliser ensemble. Ne pas utiliser avec d'autres références de produit.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

- 1. Les antisérums témoins positifs doivent produire une agglutination de 2+ ou supérieure à 1/80 dans la lame ou l'essai en tube lors de tests avec les antigènes fébriles homologues correspondants.

Antigène fébrile	Antisérum témoin homologue
Salmonella O groupe A	Polyvalent somatique de Salmonella
Salmonella O groupe B	
Salmonella O groupe D	
Salmonella O flagellaire a	Polyvalent flagellaire de Salmonella
Salmonella O flagellaire b	
Salmonella O flagellaire d	
Brucella abortus	Témoin positif de Brucella
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	Témoin polyvalent de Proteus
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	Francisella tularensis

- 2. Le contrôle négatif ne doit présenter aucune agglutination avec les Febrile Antigens.
La sensibilité des Febrile Antigens se détermine en démontrant une réactivité appropriée à la fois dans la lame et les essais en tube, comme défini dans la section " Résultats ", à l'aide des sérums anti-fébriles témoins homologues. La spécificité des Febrile Antigens se détermine en démontrant une non réactivité face aux sérums anti-fébriles témoins non apparentés (hétérologues).

CONDITIONNEMENT

No réf.	Description
240786	Febrile Antigen Set, un module de 11 flacons.
Febrile Antigens	
240731	Salmonella O Group A Antigen (1-2-12), un flacon de 5 mL.
240732	Salmonella O Group B Antigen (1-4-5-12), un flacon de 5 mL.
240734	Salmonella O Group D Antigen (9-12) (Typhoïde O), un flacon de 5 mL.
240834	Salmonella Flagellar a Antigen, un flacon de 5 mL.
240835	Salmonella Flagellar b Antigen, un flacon de 5 mL.
240785	Salmonella Flagellar d Antigen (Typhoid H), un flacon de 5 mL.
241049	Brucella abortus Antigen, un flacon de 5 mL.
240943	Brucella melitensis Antigen, un flacon de 5 mL.
240944	Brucella suis Antigen, un flacon de 5 mL.
240782	Proteus OX19 Antigen, un flacon de 5 mL.
240783	Proteus OX2 Antigen, un flacon de 5 mL.
240784	Proteus OXK Antigen, un flacon de 5 mL.
241050	Francisella tularensis Antigen, un flacon de 5 mL.
Febrile Control Antisera	
240941	Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A, B, D), un flacon de 5 mL.
240942	Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a, b, d), un flacon de 5 mL.
240934	Brucella Positive Control Antiserum (AMS), un flacon 5 mL.
240940	Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2,OX19), un flacon de 5 mL.
240939	Francisella tularensis Antiserum, un flacon de 5 mL.
240937	Febrile Antigen Negative Control, un flacon de 5 mL.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique “References” du texte anglais.



BD Febrile Antigens for Febrile Antigen Agglutination Tests

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Febrile Antigene werden in Agglutinationstests als Hilfsmittel zur Diagnose bestimmter Fieberkrankheiten, wie beispielsweise Salmonellose, Brucellose und Rickettsiosen verwendet. Das Patientenserum wird mithilfe eines Objektträger- oder Röhrchen-Agglutinationstests direkt auf homologe Antikörper getestet. Diese Tests sind qualitativ und semin-quantitativ. Der Objektträger-Schnelltest wird primär als Überwachungsmethode eingesetzt und ist besonders hilfreich bei der Untersuchung einer großen Anzahl von Seren. Der Röhrchentest sollte zur Bestätigung positiver Ergebnisse beim Objektträgertest verwendet werden.

Febrile Kontroll-Antiseren wurden zusammen mit febrilen Antigenen als positive und negative Kontrollen in Agglutinationstests verwendet.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Febrile Antigentests sind serologische Anwendungen der klassischen Widal-Reaktion, die für die Diagnose von Typhusfieber empfohlen wird, sowie den Weil-Felix-Reaktionen, bei denen vorbereitete Antigene aus einem Proteus-Organismus zur Feststellung verwandter Rickettsien-Antikörper dienen.^{1,2}

Die serologische Diagnose von Patienten, die im Verdacht stehen, an Infektionskrankheiten, die sich durch anhaltendes Fieber auszeichnen, erkrankt zu sein, ist abhängig von dem Vorhandensein einer Agglutinationsreaktion zwischen dem entsprechenden Antigen und dem Patientenserum.

Die natürliche Reaktion auf die Invasion durch pathogene Organismen ist die Bildung von Antikörpern. Diese Immunreaktion ist in hohem Maße individuell und zusätzlich zum physiologischen Status und den genetischen Anlagen des Wirts von einer Vielzahl anderer Faktoren abhängig, die bei der Bildung von Antikörpern auf einen bestimmten Stimulus eine Rolle spielen. Zu diesen Faktoren gehören u.a. die Antigenizität des Organismus, die in den Wirt eingebrachte Gesamtmenge, der Einbringungsweg und der vorherige Kontakt mit dem Wirt. Diese Faktoren bestimmen die Antikörper-Bildungsrate, die Menge produzierter Antikörper und ihre Persistenz im Blutkreislauf.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Wenn ein pathogener mikrobiologischer Wirkstoff in den menschlichen Körper eindringt, wird eine Vielzahl von Antikörpern gebildet. Zu diesen Antikörpern gehören auch die Agglutinine. Serum, welches unter korrekt kontrollierten Bedingungen spezifische Agglutinine zusammen mit homologen Antigenen enthält, kann eine sichtbare Agglutination zeigen. Der Grad der Agglutination ist abhängig von der Antigen-Konzentration, der Anzahl vorhandener Antikörper, der Zusammensetzung der Salzlösung sowie der Temperatur.¹

Seren von normalen Patienten können aufgrund einer vorherigen Immunisierung, einer Infektion in der Vergangenheit oder aufgrund des Vorhandenseins von Antikörpern gegen verwandte Antigene eine positive Agglutination mit febrilen Antigenen zeigen. Im Allgemeinen sind die in diesen Situationen gefundenen Titer niedriger und bleiben auf einem konstanten Niveau. Titer, die das Ergebnis einer aktiven Infektion oder einer kürzlich erfolgten Immunisierung mit einem homologe Antigene enthaltenden Organismus sind, sind üblicherweise höher und neigen dazu, über einen bestimmten Zeitraum anzusteigen.

Aus diesem Grund ist es notwendig, zwei oder mehr Serumproben in einem Zeitraum von 3 bis 5 Tagen nach der Erkrankung zu untersuchen. Ein progressiver Titeranstieg ist das erste Anzeichen für eine kürzlich erfolgte Infektion oder Immunisierung.³

REAGENZIEN

Das Febrile Antigen Set enthält febrile Antigene:

Salmonella O, Group D (9-12) (Typhoid O)
Salmonella Flagellar, Group a
Salmonella Flagellar, Group b
Salmonella Flagellar, Group d (Typhoid H)
Brucella abortus
Proteus OX19

Control Antisera:

Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A, B, D)
Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a, b, d)
Brucella Positive Control Antiserum (AMS)
Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2,OX19)
Febrile Antigen Negative Control

Febrile Antigene sind nicht lebensfähige Bakterienzellen in einer 0,5%igen phenolisierten Kochsalzlösung mit Kristallviolett, Brilliantgrün und chemischen Stabilisatoren. Salmonella Flagellar Antigens (Best.-Nr. 240785, 240834, 240835) und Francisella Tularensis Antigen (Best.-Nr. 241050) enthalten statt Phenol 0,5 % Formaldehyd.

Febrile Control Antisera sind Vorbereitungen aus Kaninchen-Antiserum mit 30 % - 50 % Glycerin als Konservierungsmittel.

Febrile Antigen Negative Control ist Rinderalbumin (2,5 %) mit 50 % Glycerin als Konservierungsmittel.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Die Verpackung dieses Produkts enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Warnung: Kann bei Hautkontakt sensibilisieren. Kontakt mit der Haut vermeiden. Geeignete Handschuhe tragen. Beim Verschlucken umgehend einen Arzt aufsuchen und diesen Behälter oder das Etikett vorweisen.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die "Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen"⁴⁻⁷ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Nach Gebrauch Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung: Nach Erhalt bei 2 - 8 °C lagern. Febrile Antigene werden gebrauchsfertig geliefert. Verpackung erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Kontrollseren werden gebrauchsfertig geliefert. Vor Verdunstung und Kontamination schützen. Das angegebene Verfallsdatum auf jedem Fläschchen gilt nur für das in ungeöffneten Packungen aufbewahrte Produkt und bei Beachtung der entsprechenden Lagervorschriften.

PROBENENTNAHME

Mit antiseptischen Methoden 5 - 10 mL Blut in einem Blutröhrchen ohne Antikoagulanzen (z.B. **Vacutainer** Brand Glass Evacuated Tube) sammeln. Diese Röhrchenart wird empfohlen, da das Sammeln, die Gerinnung und das Zentrifugieren der Probe ohne einen Bluttransfer durchgeführt werden kann. Das Blut 20 bis 30 Min gerinnen lassen. Das Geronnene mit einem sauberen Glasstäbchen oder einem Applikatorstäbchen von den Seiten des Behälters lösen, das Röhrchen verschließen und zentrifugieren. Das Serum ablassen und bis zum Test bei 2 bis 8 °C einfrieren oder das Serum sofort bei max. -15 °C einfrieren, wenn sich der Test um mehr als 4 h verzögert.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Abhängig vom bestellten Produkt wird eines oder werden mehrere der unter "Lieferbare Produkte" aufgeführten Produkte geliefert.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

- 1. Objektträger aus Glas, 7,5 x 15 cm (kreisförmig)
- 2. Pipetten
- 3. Zahnstocher, Glasstäbchen oder andere Applikatorstäbchen
- 4. Drehmischer
- 5. 0,85%ige Kochsalzlösung
- 6. Wasserbad (37 ± 1 °C, 49 ± 1 °C)
- 7. Gefrierschrank (2 - 8 °C)
- 8. Röhrchen

Testverfahren

HINWEIS: ALLE MATERIALIEN UND AUSRÜSTUNGSGEGENSTÄNDE MÜSSEN ZUM ZEITPUNKT DER TESTDURCHFÜHRUNG BEI RAUMTEMPERATUR AUFBEWAHRT WERDEN.

Die Gebrauchsanleitung ist sorgfältig zu befolgen.

Objektträgertest

- 1. Serum (Patienten- oder Kontrollserum) auf die Objektträger verteilen. Objektträger 7,5 x 15 cm (kreisförmig) benutzen. Serumproben wie folgt auf separate Testfelder geben:

Kreis	Serum
1	0,08 mL
2	0,04 mL
3	0,02 mL
4	0,01 mL
5	0,005 mL

- 2. Die Flasche mehrere Male umdrehen, um das Antigen zu mischen.
- 3. Auf jedes Testfeld einen Tropfen Antigen mit der mit dem Fläschchen mitgelieferten Pipette geben.
- 4. Einen neuen Zahnstocher oder Applikator für jedes Testfeld verwenden; Antigen und Serum mischen.
- 5. Den Objektträger 1 Min in Nähe einer Lichtquelle schwenken und im Hinblick auf Agglutination begutachten.
- 6. Schritte 1 bis 5 für jedes Antigen wiederholen.

Röhrchentest

- 1. Verdünnungen von Patienten- und Kontrollseren vorbereiten.

Patientenseren

- a. In jedes der 8 Röhrchen 0,5 mL 0,85%ige Kochsalzlösung geben.
- b. 0,8 mL Kochsalzlösung in ein separates Röhrchen füllen und 0,2 mL Serum hinzufügen. Gut mit einer separaten Pipette durchmischen und 0,5 mL aus diesem Röhrchen in das erste der 8 in Schritt "a" vorbereiteten Röhrchen geben.
- c. Für jedes Patientens Serum eine saubere Pipette verwenden. 0,5 mL aus Röhrchen 1 in Röhrchen 2 übertragen. Eine Serienverdünnung bis Röhrchen 7 durchführen. 0,5 mL aus Röhrchen 7 entsorgen. Röhrchen 8 ist die Antigen-Kontrolle.

Hinweis: Das Ablesen der Referenzen kann, wie in Schritt 3 unter ERGEBNISSE, "Ablesen der Referenzen" beschrieben, erfolgen.

Kontrollseren

In den Röhrchen wie folgt Serienverdünnungen der Kontrollseren in Mengen zu 0,5 mL vorbereiten:

- a. 8 Röhrchen für jedes zu testende Serum in einen Ständer stellen.
- b. Mit der Pipette 0,9 mL 0,85%ige Kochsalzlösung in das erste Röhrchen jeder Reihe geben sowie 0,5 mL in alle anderen Röhrchen.
- c. Dem ersten Röhrchen mit 0,9 mL Kochsalzlösung 0,1 mL Serum hinzufügen.
- d. Gut mit einer Pipette vermischen und 0,5 mL aus dem ersten Röhrchens in das zweite Röhrchen geben. Gut durchmischen.
- e. Die 0,5 mL Serumverdünnung bis Röhrchen 7 fortsetzen. Nach dem gründlichen Durchmischen 0,5 mL aus Röhrchen 7 entsorgen. Röhrchen 8 ist das Röhrchen mit der Antigen-Kontrolle.

- 2. Antigen-Verdünnungen vorbereiten

- a. Brucella-, Salmonella-, Proteus- und Francisella-Antigene im Verhältnis 1 : 50 (ein Teil Antigen zu neunundvierzig Teilen 0,85%iger Kochsalzlösung) verdünnen, z.B. 0,25 mL Antigen und 12,25 mL Kochsalzlösung.

- 3. Antigen und Serum vermischen

Jedem Röhrchen mit Patientenseren oder Kontrollseren sowie dem Röhrchen mit der Antigen-Kontrolle 0,5 mL verdünntes Antigen hinzufügen. Die Röhrchen 10 sec lang schütteln. Die daraus resultierenden Verdünnungen sind Verdünnungen im Verhältnis 1 : 20 bis 1 : 1280.

- 4. Inkubieren.

Antigen	Inkubation
Salmonella O Group A	18 bis 24 h in einem Wasserbad mit 48 bis 50 °C
Salmonella O Group B	
Salmonella O Group D	16 bis 18 h in einem Wasserbad mit 48 bis 50 °C
Salmonella Flagellar a	1 h in einem Wasserbad mit 48 bis 50 °C
Salmonella Flagellar b	
Salmonella Flagellar d	
Brucella abortus	48 h in einem Wasserbad mit 37 °C
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	2 h in einem Wasserbad mit 37 °C, anschließend über Nacht bei 2 bis 8 °C einfrieren
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	20 h in einem Wasserbad mit 37 °C

Qualitätssicherung durch den Anwender

Bei der Anwendung sowohl positive als auch negative Antiseren-Kontrollen einsetzen, um die Leistung der Antigene, die Techniken und die Methodik zu überprüfen.

Die Verwendung von Francisella tularensis Antiserum (Best.-Nr. 240939) kann bei der Kontrolle sowohl positiver Ergebnisse mit dem Francisella tularensis-Antigen als auch von Kreuzreaktionen, besonders mit dem Brucella abortus-Antigen hilfreich sein.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten NCCLS-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

ERGEBNISSE

Objektträgertest

- 1. Auf Agglutination überprüfen und diese notieren

Agglutinationsgrad		
100 %	Hintergrund klar bis leicht trüb	4+
75 %	Hintergrund leicht wolkig	3+
50 %	Hintergrund mäßig wolkig	2+
25 %	Hintergrund wolkig	1+
Keine		Negativ

- 2. Bestimmung des Antikörpertiters

Der Titer ist reziprok zur höchsten Verdünnung mit einer Agglutination der Stärke 2+.

Serum, mL	Korrelationsverdünnung
0.08	1 : 20
0.04	1 : 40
0.02	1 : 80
0.01	1 : 160
0.005	1 : 320

Röhrchentest

- 1. Auf Agglutination überprüfen und diese notieren

Jedes Röhrchen äußerst vorsichtig bewegen und Agglutination wie folgt dokumentieren:

100 %	Klare Flüssigkeit über den Agglutininen	4+
75 %	Leicht wolkig	3+
50 %	Mäßig wolkig	2+
25 %	Wolkig	1+
Negativ	Sehr wolkig ohne Agglutinine	

- 2. Titer messen

Der Titer ist reziprok zur höchsten Verdünnung mit einer Agglutination der Stärke 2+.

Röhrchen-Nummer	Verdünnung
1	1 : 20
2	1 : 40
3	1 : 80
4	1 : 160
5	1 : 320
6	1 : 640
7	1 : 1280

3. Ablesen der Referenzen:
Die folgende Tabelle "Ablesen der Referenzen" ist hilfreich bei der Bestimmung, wie der flüssige Teil des Röhrchentests im Hinblick auf die unterschiedlichen Agglutinationsgrade aussehen sollte. Dies gilt nur für den flüssigen Teil.

Antigen, mL	Kochsalzlösung, mL	Flüssigkeitswert
0,5 mL	0.5 mL	Negativ
0,25 mL	0.75 mL	2+
0,125 mL	0.875 mL	3+

HINWEIS: Wenn eine Autoagglutination des Antigens vermutet wird, die unter "Ablesen der Referenzen" aufgeführten Mischungen genau wie oben beschrieben vorbereiten. Agglutiniertes Material in einem oder in allen der Röhrchen zeigt, dass das Antigen instabil ist und entsorgt werden muss.

Wie bei anderen Agglutinationstests kann kein Einzeltest und keine Einzelbestimmung als diagnostisch betrachtet werden. Es existieren viele Variablen (siehe "Verfahrensbeschränkungen"). Ein vierfacher Anstieg des Antikörpertiters, nachweisbar in Seren, die im Abstand von ungefähr 5 Tagen während der akuten Phase und der Rekonvaleszenzphase gesammelt wurden, lässt in hohem Maße die Vermutung einer spezifischen Präsumtivid Diagnose zu. Die Tabelle unten liefert einen ungefähren Anhaltspunkt für die Bedeutung des Serumtiters.³

Serum-Agglutinine				
Krankheit	Febriles Antigen	Ausbruch	Höchstdauer	Titer und Signifikanz
Typhusfieber	Salmonella O Group D	7 bis 10 Tage	3 bis 5 Wochen	1 : 80† (in den frühen Stadien) = Verdacht 1 : 160† und steigend = starker Verdacht
	Salmonella Flagellar d	später	später	1 : 40* = Verdacht 1 : 160* = starker Verdacht
Paratyphusfieber und andere Salmonelleninfektionen	Salmonella Flagellar a Salmonella Flagellar b Salmonella O Group A Salmonella O Group B	Die Erkrankungen, die sich durch anhaltendes Fieber und typhusähnliche Symptome auszeichnen, zeigen Antikörpertiter, die den oben aufgeführten gleichen; niedrigere Titer sind, je nach Vorhandensein einer bestimmten <i>Salmonella</i> -Spezies, möglicherweise signifikanter.		
Tularemie	Francisella tularensis	7 bis 14 Tage	4 bis 8 Wochen	1 : 160 = starker Verdacht
Typhusfieber	**Proteus OX19	7 bis 14 Tage	um den 14. Tag	1 : 40 bis 1 : 80 im frühen Stadium = Verdacht 1 : 160 = starker Verdacht
Rocky-Mountain-Fieber (nordamerikanisches Fleckfieber)	**Proteus OX19	7 bis 10 Tage	um den 14. Tag	Spitzentiter liegen üblicherweise nicht über 1 : 160 bis 1 : 320
Brucellose	Brucella abortus	2 bis 3 Wochen	3 bis 5 Wochen	1 : 80 bis 1 : 160 = starker Verdacht

†Kann bei geimpften Personen höher sein

*Viel höher bei geimpften Personen

**Die Weil-Felix-Reaktionen, zu denen es bei Rickettsiosen kommen kann, sind in der Tabelle unten aufgeführt:

Krankheit	Proteus OX19	Proteus OX2	Proteus OXK
Epidemisches Fleckfieber	4+	1+	0
Rattenfleckfieber	4+	1+	0
Tsutsugamushi-Fieber	0	0	3+
Fleckfieber-Gruppe	4+ oder 1+	1+ oder 3+	0
Q-Fieber (Queenslandfieber)	0	0	0
Rickettsienpocken	0	0	0

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Prozone-Reaktionen sind möglich. Wenn keine Verklumpung in geringeren Verdünnungen zu erkennen ist, unbedingt sicherstellen, dass Agglutination bei höchster Verdünnung beobachtet wird.

Es kommt gelegentlich vor, dass Patienten keine Serumagglutinine ausbilden.

In bestimmten geographischen Gegenden und bei bestimmten Bevölkerungsgruppen sind Typhusfieber, *Salmonella* und *Brucella* endemisch, und es kann ein hohes Maß an natürlichen Agglutininen vorhanden sein.

Es kann zu Kreuzreaktionen zwischen den Brucella- und den Francisella-Antigenen und Antiseren kommen. Aus diesem Grund sollten parallele Tests mit diesen Antigenen durchgeführt werden. Im Allgemeinen wird ein höherer Titer mit dem homologen Antigen erreicht.

Kreuzreaktionen, vorherige Impfung, anamnestiche Reaktionen,⁸ Behandlung mit Antibiotika, sonstige bekannte oder unbekannte Krankheiten, Prozone und Autoagglutinationen sowie andere Faktoren können diese Tests beeinflussen.

Beim Sammeln der Probe das Krankheitsstadium berücksichtigen. Es ist möglich, dass Spitzentiter nur während der Rekonvaleszenz auftreten. Während der Infektion treten Salmonella O-Antigene üblicherweise früher auf und verschwinden eher als die Agglutinine der H-Antigene.

Weil-Felix-Reaktionen können bei einer Fleckfiebererkrankung von Fall zu Fall stark variieren. Daher sind sie zur Erkennung oder Differenzierung von Rattenfleckfieber ungeeignet.⁹

Für umfassendere Informationen einschlägige Quellen konsultieren.⁹⁻¹¹

Diese Produkte sind nicht als Kulturersatz gedacht. Der etiologische Organismus muss auf geeignete Weise gewonnen und identifiziert werden.

Nur die in diesem Beipackzettel aufgeführten Produkte mit den entsprechenden Bestellnummern dürfen zusammen verwendet werden. Keine Produkte mit anderen Bestellnummern verwenden.

LEISTUNGSMERKMALE

1. Die positiven Kontroll-Antiseren sollten im Test mit den entsprechenden homologen febrilen Antigenen bei einem Verhältnis von 1 : 80 eine Agglutination von 2+ oder mehr beim Objektträger- oder Röhrchentest zeigen.

Febrile Antigen	Homologous Control Antiserum
Salmonella O Group A	Salmonella Somatic Polyvalent
Salmonella O Group B	
Salmonella O Group D	
Salmonella O Flagellar a	Salmonella Flagellar Polyvalent
Salmonella O Flagellar b	
Salmonella O Flagellar d	
Brucella abortus	Brucella Positive Control
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	Proteus Polyvalent Control
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	Francisella tularensis

2. Die negative Kontrolle sollte mit keinem febrilen Antigen eine Agglutination zeigen.

Die Sensibilität der Febrile Antigenen wird durch Nachweis der entsprechenden Reaktivität im Objektträger- und Röhrchentest (wie im Abschnitt "Ergebnisse" beschrieben) mithilfe der entsprechenden homologen Febrile Control Antisera bestimmt. Die Sensibilität der Febrile Antigenen wird durch Nachweis der Nichtreaktivität gegenüber nicht-verwandten (heterologen) Febrile Control Antisera bestimmt.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

240786 Febrile Antigen Set, Satz mit 11 Fläschchen.

Febrile Antigene

240731 Salmonella O Group A Antigen (1-2-12), ein Fläschchen mit 5 mL.
240732 Salmonella O Group B Antigen (1-4-12), ein Fläschchen mit 5 mL.
240734 Salmonella O Group D Antigen (9-2-12), ein Fläschchen mit 5 mL.
240834 Salmonella Flagellar a Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
240835 Salmonella Flagellar b Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
240785 Salmonella Flagellar d Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
241049 Brucella abortus Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
240943 Brucella melitensis Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
240944 Brucella suis Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
240782 Proteus OX19 Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
240783 Proteus OX2 Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
240784 Proteus OXK Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.
241050 Francisella tularensis Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.

Febrile Control Antisera

240941 Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A,B,D), ein Fläschchen mit 5 mL.
240942 Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a,b,d), ein Fläschchen mit 5 mL.
240934 Brucella Positive Control Antiserum (AMS), ein Fläschchen mit 5 mL.
240940 Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2, OX19), ein Fläschchen mit 5 mL.
240939 Francisella tularensis Antiserum, ein Fläschchen mit 5 mL.
240937 Febrile Antigen Negative Control, ein Fläschchen mit 5 mL.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

 BD Febrile Antigens for Febrile Antigen Agglutination Tests

Italiano

USO PREVISTO

Febrile Antigenen sono usati in prove di agglutinazione come aiuto nella diagnosi dei disturbi febbrili come la salmonellosi, la brucellosi e disturbi rickettsiosi. Il siero del paziente viene testato direttamente per ricercare anticorpi omologhi con una prova di agglutinazione su vetrino o in provetta. Questi test sono qualitativi e semi-quantitativi. Il test rapido su vetrino è utilizzato principalmente come procedura di ricerca utile in particolar modo in quei casi in cui è necessario esaminare grandi quantità di siero. Sarà necessario confermare i risultati ottenuti con il test su vetrini con il test in provetta.

Febrile Control Antisera sono impiegati nelle prove di agglutinazione insieme ai Febrile Antigens come controlli negativi o positivi.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

I test degli antigeni febbrili sono applicazioni sierologiche della classica sierodiagnosi di Widal concepita per la diagnosi della febbre tifoide e le prove di Weil-Felix in cui gli antigeni preparati da un organismo Proteus sono utilizzati per rilevare gli anticorpi rickettsiosi collegati.^{1,2}

La diagnosi sierologica dei pazienti con sospetti disturbi infettivi caratterizzati da febbre persistente dipende dalla dimostrazione di una reazione di agglutinazione tra gli antigeni opportuni ed il siero del paziente.

La reazione naturale all'invasione degli organismi patogeni è la produzione di anticorpi. Questa reazione immunitaria è molto soggettiva e oltre allo stato fisiologico del portatore e alle capacità genetiche, molti altri fattori concorrono alla produzione di anticorpi in seguito ad un determinato stimolo. Questi comprendono l'antigenicità dell'organismo, la quantità totale introdotta nel portatore ed il percorso dell'introduzione, e l'eventuale precedente esposizione del portatore all'organismo. Tali fattori determineranno il ritmo di formazione degli anticorpi, la quantità degli anticorpi prodotti e la loro persistenza all'interno del sistema circolatorio.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Quando il corpo umano è invaso da qualsiasi agente microbiologico patogeno, si forma una varietà di anticorpi, tra cui le agglutinine. Un siero contenente agglutinine specifiche in combinazione con antigeni omologhi in condizioni adeguatamente controllate è in grado di provocare un'agglutinazione evidente. Il grado di formazione dell'agglutinazione dipende dalla concentrazione dell'antigene, dal numero di anticorpi presenti, dalla composizione della soluzione fisiologica e dalla temperatura.¹ I sieri dei pazienti normali potranno mostrare agglutinazione positiva di antigeni febbrili dovuta ad una precedente immunizzazione, a passate infezioni o alla presenza di anticorpi dei relativi antigeni. Generalmente, i titoli riscontrati in questi casi saranno inferiori e rimarranno ad un livello costante. I titoli rilevati a causa di un'infezione attiva o di una recente immunizzazione con un organismo contenente antigeni omologhi di solito sono in numero maggiore e tendono ad aumentare per un certo periodo di tempo. Per tale motivo, si rende necessaria una valutazione di due o più campioni di siero prelevati a intervalli di 3 - 5 giorni, dopo l'insorgenza della malattia. La primaria evidenza della recente infezione o immunizzazione è un progressivo aumento dei titoli.³

REAGENTI

Il set Febrile Antigen contiene gli antigeni febbrili:

- Salmonella O Gruppo D (9-12) (Tifoide O)
- Salmonella Flagellato Gruppo a
- Salmonella Flagellato Gruppo b
- Salmonella Flagellato Gruppo d (Tifoide H)
- Brucella abortus
- Proteus OX19

Antisieri di controllo:

- Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A, B, D)
- Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a, b, d)
- Brucella Positive Control Antiserum (AMS)
- Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2,OX19)
- Febrile Antigen Negative Control

Gli antigeni febbrili sono cellule batteriche non vitali in soluzione fisiologica fenolizzata allo 0,5% con aggiunta di cristallio violetto, verde brillante e stabilizzatori chimici. Salmonella Flagellar Antigens (Numero di catalogo 240785, 240834, 240835) e Francisella Tularensis Antigen (Numero di catalogo 241050) contengono lo 0,5% di formaldeide in sostituzione del fenolo.

Febrile Control Antiserum sono preparazioni di antisiero di coniglio con il 30% - 50% di glicerina come conservante.

Febrile Antigen Negative Control è Albumina bovina (2,5%) con il 50% di glicerina come conservante.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale secca.

Avvertenza - Può provocare sensibilizzazione per inalazione. Evitare il contatto con la pelle. Usare guanti adatti. In caso di ingestione, rivolgersi immediatamente ad un medico e mostrare questo contenitore o l'etichetta.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".⁴⁻⁷ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Modalità di conservazione - Non appena ricevuti, conservare a temperatura compresa tra 2 e 8 °C. I Febrile Antigens sono forniti pronti all'uso. Aprire soltanto al momento dell'uso. Controllare che i sieri siano stati forniti pronti all'uso. Proteggere dall'evaporazione e dalla contaminazione. La data di scadenza riportata sulla fiala si riferisce al prodotto conservato come indicato nel contenitore intatto.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Ricorrendo a tecniche asettiche, prelevare 5 - 10 mL di sangue in una provetta per sangue senza anticoagulante (**Vacutainer** Brand Glass Evacuated Tube). Si consiglia questo tipo di provetta perché permette il prelievo, la coagulazione e la centrifugazione del campione senza dover trasferire il sangue. Far coagulare il sangue per 20 - 30 min. Sciogliere il coagulo dalla parte laterale del contenitore servendosi di un'astina di vetro pulita o di uno stick di applicazione, zappare la provetta e centrifugare. Estrarre il siero e refrigerare a 2 - 8 °C fino al momento della prova, o congelare immediatamente ad una temperatura pari o inferiore a -15 °C nel caso in cui il test venga eseguito dopo più di 4 h.

PROCEDIMENTO

Materiali forniti A seconda del prodotto ordinato, vengono forniti uno o più prodotti presenti nell'elenco "Disponibilità".

Materiali necessari ma non forniti:

- Vetrino 7,5 x 15 cm (cerchiato)
- Pipette
- Strumenti da dentista, astine di vetro o altri stick di applicazione
- Agitatore rotatorio
- Soluzione fisiologica allo 0,85%
- Bagnomaria (37 ± 1 °C, 49 ± 1 °C)
- Frigorifero (2 - 8 °C)
- Provette

Procedura del test

NOTA: TUTTI I MATERIALI E LE APPARECCHIATURE DEVONO TROVARSI A TEMPERATURA AMBIENTE AL MOMENTO DELL'ESECUZIONE DEL TEST.

Seguire attentamente le istruzioni per l'uso.

Test su vetrino

- Dispensare il siero (del paziente o del controllo) sui vetrini. Utilizzare vetrini 7,5 x 15 cm (cerchiati). Dispensare i campioni di siero in cerchi separati nel modo seguente:

Cerchio	Siero
1	0,08 mL
2	0,04 mL
3	0,02 mL
4	0,01 mL
5	0,005 mL

- Capovolgere ripetutamente la bottiglia per miscelare l'antigene.
- Aggiungere una goccia di antigene in ogni cerchio con il contagocce fornito con la fiala.
- Servendosi di uno strumento da dentista o un applicatore nuovi per ogni cerchio, miscelare l'antigene ed il siero.
- Agitare delicatamente il vetrino per 1 min in prossimità di una fonte di luce e osservare l'agglutinazione.
- Ripetere le fasi da 1 a 5 per ciascun antigene.

Test in provetta

- Preparare le diluizioni dei sieri del paziente e del controllo.

Sieri del paziente

- Aggiungere 0,5 mL di soluzione fisiologica allo 0,85% in ognuna delle 8 provette.
- Aggiungere 0,2 mL di siero in una provetta separata contenente 0,8 mL di soluzione fisiologica. Miscelare bene con un'altra pipetta e aggiungere 0,5 mL del contenuto alla prima delle 8 provette preparate nella fase "a".
- Utilizzando una pipetta pulita per ogni siero del paziente, miscelare e trasferire 0,5 mL dalla provetta 1 alla provetta 2 e diluire in serie fino alla provetta 7. Togliere 0,5 mL dalla provetta 7. La provetta 8 è l'antigene di controllo.

Nota I Riferimenti di lettura possono essere configurati nel modo descritto nel paragrafo 3 dei RISULTATI, "Riferimenti di lettura".

Sieri di controllo

Preparare le diluizioni in serie dei sieri di controllo in quantità di 0,5 mL nelle provette, nella maniera seguente:

- Per ogni siero da testare, posizionare 8 provette in un rack.
- Con una pipetta introdurre 0,9 mL di soluzione fisiologica allo 0,85% nella prima provetta di ogni fiala e 0,5 mL in ognuna delle provette rimanenti.
- Aggiungere 0,1 mL del siero alla prima provetta contenente 0,9 mL di soluzione fisiologica.
- Miscelare bene con una pipetta e trasferire 0,5 mL dalla prima alla seconda provetta. Mescolare accuratamente.
- Continuare a diluire 0,5 mL di siero fino alla provetta 7. Togliere 0,5 mL dalla provetta 7 dopo aver miscelato accuratamente. La provetta 8 è la provetta del controllo dell'antigene.

- Preparare le diluizioni degli antigeni.

- Diluire gli antigeni Brucella, Salmonella, Proteus e Francisella fino ad avere una parte di antigene in quarantanove parti di soluzione fisiologica allo 0,85% (1:50), per esempio, 0,25 mL di antigene e 12,25 mL di soluzione fisiologica.

- Miscelare l'antigene ed il siero.

Aggiungere 0,5 mL dell'antigene diluito ad ogni provetta contenente siero del paziente o siero del controllo, nonché alla provetta del controllo dell'antigene. Agitare le provette per 10 sec. Le diluizioni risultanti vanno rispettivamente da 1:20 a 1:1280.

- Incubare.

Antigene	Incubazione
Salmonella O Gruppo A	Mettere in bagnomaria per 18 - 24 h a 48 - 50 °C
Salmonella O Gruppo B	
Salmonella O Gruppo D	Mettere in bagnomaria per 16 - 18 h a 48 - 50 °C
Salmonella Flagellato a	Mettere in bagnomaria per 1 h a 48 - 50 °C
Salmonella Flagellato b	
Salmonella Flagellato d	
Brucella abortus	48 h in bagnomaria a 37 °C
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	2 h in bagnomaria a 37 °C seguite da refrigerazione per tutta la notte a 2 - 8 °C
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	20 h in bagnomaria a 37 °C

Controllo di qualità a cura dell'utente

Al momento dell'uso, applicare entrambi i controlli per gli antisieri positivi e negativi per verificare le prestazioni degli antigeni, le tecniche e la metodologia.

L'utilizzo di Francisella tularensis Antiserum (Numero di catalogo 240939) può essere d'aiuto nel controllo dei risultati positivi con Francisella tularensis Antigen e con le reazioni incrociate, in particolare con Brucella abortus Antigen.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

RISULTATI

Test su vetrino

- Registrazione dell'agglutinazione

Grado di agglutinazione	
100 %	sfondo da trasparente a leggermente appannato
75 %	sfondo leggermente torbido
50 %	sfondo moderatamente torbido
25 %	sfondo torbido
Assente	Negativo

2. Determinazione del titolo dell'anticorpo
Il titolo è il reciproco della più elevata diluizione che produce agglutinazione pari a 2+.

Siero, mL	Diluizione di correlazione
0,08	1:20
0,04	1:40
0,02	1:80
0,01	1:160
0,005	1:320

Test in provetta

1. Registrare l'agglutinazione
Agitare molto delicatamente le provette e registrare l'agglutinazione nel modo seguente:

100 %	Liquido trasparente sopra le agglutinine	4+
75 %	Leggermente torbido	3+
50 %	Moderatamente torbido	2+
25 %	Torbido	1+
Negativo	Molto torbido privo di agglutinine	

2. Misurare il titolo
Il titolo è il reciproco della più elevata diluizione finale che produce agglutinazione pari a 2+.

Numero di provetta	Diluizione
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280

3. Riferimenti di lettura
La seguente tabella dei Riferimenti di lettura sarà d'aiuto nel determinare l'aspetto della parte liquida del test in provetta in base ai vari gradi di agglutinazione. Valido solo per la parte liquida.

Antigene, mL	Soluzione fisiologica, mL	Lettura del liquido
0,5 mL	0,5 mL	Negativo
0,25 mL	0,75 mL	2+
0,125 mL	0,875 mL	3+

NOTA In caso di sospetta auto-agglutinazione dell'antigene, preparare le miscele dei "Riferimenti di lettura" seguendo esattamente le indicazioni riportate sopra. La presenza di materiale agglutinato in una o più provette indica che l'antigene è instabile ed è necessario eliminarlo.

Come per altre prove di agglutinazione, non è possibile considerare diagnostici singoli test o determinazioni. Concorrono molte variabili (Vedere "Limitazioni della Procedura"). Tuttavia, un aumento di quattro volte del titolo dell'anticorpo dimostrabile in sieri di fase acuta e di convalescenza accoppiati, prelevati approssimativamente ad intervalli di cinque giorni fornisce un suggerimento molto attendibile per quanto riguarda la specifica diagnosi presuntiva. L'elenco riportato sotto offre un'indicazione approssimativa dell'interpretazione dei titoli del siero.³

Agglutinine del siero				
Disturbo	Antigene febbrile	Manifestazione	Massimo	Titolo ed interpretazione
Febbre tifoide	Salmonella O Gruppo D	da 7 a 10 giorni	da 3 a 5 settimane	1:80† (negli stadi precoci) = sospetta 1:160† e in crescita = molto indicativa
	Salmonella Flagellato d	successiva	successiva	1:40* = sospetta 1:160† = molto indicativa
Febbre paratifoide ed altre infezioni di Salmonella	Salmonella Flagellato a Salmonella Flagellato b Salmonella O Gruppo A Salmonella O Gruppo B	Quelle caratterizzate da febbre prolungata e sintomi tifoïdi presentano anticorpi con titoli simili a quelli riportati sopra; titoli inferiori potranno essere maggiormente significativi in base alla prevalenza di particolari specie di <i>Salmonella</i> .		
Tularemia	Francisella tularensis	da 7 a 14 giorni	da 4 a 8 settimane	1:160† = molto indicativa
Febbri da tifo	**Proteus OX19	da 7 a 10 giorni	il 14° giorno	da 1:40 a 1:80 precoce = sospetta 1:160† = molto indicativa
Febbre delle Montagne Rocciose	**Proteus OX19	da 7 a 10 giorni	il 14° giorno	titoli di picco di norma non superiori a 1:160 - 1:320
Brucellosi	Brucella abortus	da 2 a 3 settimane	da 3 a 5 settimane	da 1:80 a 1:160 = molto indicativa

†Può essere superiore in individui vaccinati

*Molto superiore in individui vaccinati

**Le reazioni di Weil-Felix che si verificano nei disturbi rickettiosi sono indicati nell'elenco sotto:

Disturbo	Proteus OX19	Proteus OX2	Proteus OXK
Tifo epidemico	4+	1+	0
Tifo murino	4+	1+	0
Febbre fluviale del Giappone	0	0	3+
Gruppo delle febbri maculate	4+ o 1+	1+ o 3+	0
Febbre Q	0	0	0
Rickettsialpox	0	0	0

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Sono possibili reazioni di prozona. Se non sono visibili grumi a diluizioni inferiori, osservare con attenzione l'agglutinazione alle diluizioni superiori.

I pazienti talvolta non sviluppano le agglutinine del siero.

In alcune zone geografiche ed in particolari ambienti di lavoro, la *Salmonella* e la *Brucella* sono endemiche ed è possibile la presenza di un elevato livello di agglutinine naturali.

Tra gli antigeni e gli antisieri di Brucella e Francisella possono verificarsi reazioni incrociate. Con tali antigeni, sarà necessario svolgere test paralleli. In genere i titoli più alti si ottengono con l'antigene omologo.

Le reazioni incrociate, le vaccinazioni preventive, le reazioni anamnestiche⁸, la terapia antibiotica, altri disturbi conosciuti o non conosciuti, prozone ed autoagglutinazioni, insieme ad altri fattori, possono influenzare queste prove.

Considerare lo stadio della malattia al momento del prelievo del campione. È possibile che titoli di picco possano verificarsi solo durante la convalescenza. Nel corso dell'infezione, le agglutinine per gli antigeni della Salmonella O appaiono solitamente prima e scompaiono prima delle agglutinine per gli antigeni H.

Le reazioni di Weil-Felix possono variare ampiamente da un caso all'altro di febbre maculata e quindi offrono un supporto relativamente utile nel rilevamento della malattia o nella sua differenziazione dal tifo murino.⁹

Per informazioni più esaurienti, consultare il riferimento opportuno.⁹⁻¹¹

Questi prodotti non sostituiscono la coltura. Sarà necessario effettuare un adeguato tentativo per rintracciare ed identificare l'organismo eziologico.

Usare solo i numeri di catalogo di prodotto riportati nel presente allegato. Non utilizzare con altri numeri di catalogo di prodotto.

PERFORMANCE

1. Gli antisieri di controllo positivo produrranno agglutinazione di 2+ o superiori a 1:80 nella prova su vetrino o in provetta, se testate con i corrispondenti antigeni omologhi.

Antigene febbrile	Antisiero di controllo dell'omologo
Salmonella O Gruppo A	Salmonella Somatic Polyvalent
Salmonella O Gruppo B	
Salmonella O Gruppo D	
Salmonella O Flagellato a	Salmonella Flagellar Polyvalent
Salmonella O Flagellato b	
Salmonella O Flagellato d	
Brucella abortus	Brucella Positive Control
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	Proteus Polyvalent Control
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	Francisella tularensis

2. Il controllo negativo non evidenzierà alcuna agglutinazione con nessuno dei Febrile Antigens

La sensibilità dei Febrile Antigens viene determinata dimostrando un'adeguata reattività sia nelle prove su vetrino che in quelle in provetta, come definito nella sezione "Risultati", utilizzando il rispettivo Febrile Control Antiserum. La specificità di Febrile Antigens è determinata dimostrando la non reattività con gruppi estranei a Febrile Control Antiserum (eterologhi).

DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

240786 Set Febrile Antigen, un set di 11 fiale.

Febrile Antigens

240731 Salmonella O Group A Antigen (1-2-12), fiala da 5 mL.
240732 Salmonella O Group B Antigen (1-4-5-12), fiala da 5 mL.
240734 Salmonella O Group D Antigen (9-12) (Typhoid O), fiala da 5 mL.
240834 Salmonella Flagellar a Antigen, fiala da 5 mL.
240835 Salmonella Flagellar b Antigen, fiala da 5 mL.
240785 Salmonella Flagellar d Antigen (Typhoid H), fiala da 5 mL.
241049 Brucella abortus Antigen, fiala da 5 mL.
240943 Brucella melitensis Antigen, fiala da 5 mL.
240944 Brucella suis Antigen, fiala da 5 mL.
240782 Proteus OX19 Antigen, fiala da 5 mL.
240783 Proteus OX2 Antigen, fiala da 5 mL.
240784 Proteus OXK Antigen, fiala da 5 mL.
241050 Francisella tularensis Antigen, fiala da 5 mL.

Febrile Control Antiserum

240941 Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A,B,D), fiala da 5 mL.
240942 Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a,b,d), fiala da 5 mL.
240934 Brucella Positive Control Antiserum (AMS), fiala da 5 mL.
240940 Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2,OX19), fiala da 5 mL.
240939 Francisella tularensis Antiserum, fiala da 5 mL.
240937 Febrile Antigen Negative Control, fiala da 5 mL.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

4. Incubar.

Antígeno	Incubación
Salmonella O Grupo A	18 - 24 h en un baño María a 48 - 50 °C
Salmonella O Grupo B	
Salmonella O Grupo D	16 - 18 h en un baño María a 48 - 50 °C
Salmonella Flagellar a	1 h en un baño María a 48 - 50 °C
Salmonella Flagellar b	
Salmonella Flagellar d	
Brucella abortus	48 h en un baño María a 37 °C
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	2 h en un baño María a 37 °C seguido de refrigeración del día anterior a 2 - 8 °C
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	20 h en un baño María a 37 °C

Control de calidad del usuario

En el momento del uso, aplicar controles de antígenos tanto positivos como negativos para comprobar el rendimiento de los antígenos, las técnicas y la metodología.

El uso de Francisella tularensis Antiserum (Nº Ref. 240939) puede facilitar el control de ambos resultados positivos con Francisella tularensis Antigen y reacciones cruzadas en especial con Brucella abortus Antigen.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

Prueba en portaobjetos

1. Registrar aglutinación

Grado de aglutinación		
100 %	fondo transparente a ligeramente lechoso	4+
75 %	fondo ligeramente turbio	3+
50 %	fondo moderadamente turbio	2+
25 %	fondo turbio	1+
Sin turbidez		Negativo

2. Determinación de titulación de anticuerpo

La titulación es el recíproco de la dilución más alta que produce una aglutinación de 2+.

Suero, mL	Dilución de correlación
0,08	1:20
0,04	1:40
0,02	1:80
0,01	1:160
0,005	1:320

Prueba en tubo

1. Registrar aglutinación

Agitar muy suavemente cada tubo y registrar la aglutinación de la manera siguiente:

100 %	Líquido transparente sobre aglutininas	4+
75 %	Ligeramente turbio	3+
50 %	Moderadamente turbio	2+
25 %	Turbio	1+
Negativo		muy turbio sin aglutininas

2. Medir la titulación

La titulación es el recíproco de la dilución final más alta que produce una aglutinación de 2+.

Número de tubo	Dilución
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280

3. Referencias de lectura

La siguiente tabla de referencias de lectura le ayudará a determinar cómo la porción de líquido del tubo de ensayo debe aparecer según los diferentes grados de aglutinación. Esto se aplica solamente a la porción líquida.

Antígeno, mL	Solución salina, mL	Lectura del líquido
0,5 mL	0,5 mL	Negativo
0,25 mL	0,75 mL	2+
0,125 mL	0,875 mL	3+

NOTA: Si se sospecha autoaglutinación del antígeno, preparar las mezclas de "Referencias de lectura" tal como se indica anteriormente. El material aglutinado en cualquiera o todos los tubos indica que el antígeno no es estable y debe descartarse.

El diagnóstico definitivo no debe fundamentarse en los resultados de un único análisis. Están involucradas muchas variables (véase "Limitaciones del procedimiento"). Sin embargo, un incremento de cuatro veces en la titulación de anticuerpos demostrable en sueros de fase aguda y convaleciente asociados recogidos a intervalos de cinco días aproximadamente, es una indicación muy evidente de un diagnóstico presuntivo específico. En la tabla inferior se muestran indicaciones aproximadas de la importancia de las titulaciones de suero³.

Aglutininas de suero				
Enfermedad	Febrile Antigen	Apariencia	Máximo	Titulación e importancia
Fiebre tifoidea	Salmonella O Grupo D	7 a 10 días	3 to 5 weeks	1:80† (en las primeras etapas) = sospechoso 1:160† y en aumento = muy indicativo
	Salmonella Flagellar d	más adelante	más adelante	1:40* = sospechoso 1:160* = muy indicativo
Fiebre paratifoidea y otras infecciones de Salmonella	Salmonella Flagellar a Salmonella Flagellar b Salmonella O Grupo A Salmonella O Grupo B	Los que se caracterizan por una fiebre prolongada y síntomas similares a la tifoidea presentan anticuerpos de titulaciones similares a las indicadas anteriormente. Titulaciones menores pueden ser más significativas dependiendo de la prevalencia de alguna especie de <i>Salmonella</i> en particular.		
Tularemia	Francisella tularensis	7 a 14 días	4 a 8 semanas	1:160 = muy indicativo
Typhus Fevers	**Proteus OX19	7 a 10 días	para el día 14t	1:40 a 1:80 en las primeras etapas = sospechoso 1:160 = muy indicativo
Rocky Mountain Spotted Fever	**Proteus OX19	7 a 10 días	para el día 14t	Titulaciones máximas a menudo no superan 1:160 a 1:320
Brucellosis	Brucella abortus	2 a 3 semanas	3 a 5 semanas	1:80 a 1:160 = muy indicativo

†Puede ser más elevado en individuos vacunados

*Mucho más elevado en individuos vacunados

**Las reacciones Weil-Felix que ocurren en la enfermedad de rickettsiosis se muestran en la tabla inferior:

Enfermedad	Proteus OX19	Proteus OX2	Proteus OXK
Tifus epidémico	4+	1+	0
Tifus murina	4+	1+	0
Tifus de los matorrales	0	0	3+
Grupo de fiebre manchada	4+ o 1+	1+ o 3+	0
Fiebre Q	0	0	0
Rickettsiosis pustulosa	0	0	0

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Son posibles las reacciones prozona Se debe tener cuidado de observar la aglutinación en las diluciones más elevadas si no se observa aglutinación en diluciones menores.

Los pacientes de vez en cuando no desarrollan aglutininas en suero.

En determinadas regiones geográficas y profesiones, la fiebre tifoidea, *Salmonella* y *Brucella* son endémicas y pueden presentarse altos niveles de aglutininas naturales.

Pueden ocurrir reacciones cruzadas entre los antígenos de Brucella y Francisella. Por consiguiente, se deben ejecutar pruebas en paralelo con dichos antígenos. Por lo general se obtiene una titulación más alta con el antígeno homólogo.

Las reacciones cruzadas, las vacunaciones anteriores, respuestas anamnésicas⁸, antibioterapia, otras enfermedades conocidas o desconocidas, prozonas, autoaglutinaciones y otros factores pueden afectar a dichas pruebas.

Tomar en cuenta la etapa de la enfermedad cuando se recoja la muestra Es posible que se produzcan titulaciones máximas sólo durante la convalecencia. Durante la infección, las aglutininas a los antígenos de Salmonella O habitualmente aparecen más pronto y desaparecen también más pronto que las aglutininas a los antígenos H.

Las reacciones Weil-Felix pueden variar mucho de un caso a otro de fiebre manchada y, por consiguiente, ser de muy poca utilidad para la detección de la enfermedad o la diferenciación de dicha enfermedad del tifus murina⁹.

Para obtener información más completa, consultar las referencias correspondientes⁹⁻¹¹.

Estos productos no están diseñados como sustituto de un cultivo. Se deben realizar los procedimientos pertinentes para recuperar e identificar el organismo etiológico.

Sólo los números de referencia de producto enumerados en este folleto deben utilizarse conjuntamente. No utilizar con otros números de referencia de producto.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

1. Los antisueros de control deben producir una aglutinación de 2+ o más en una dilución 1:80 en la prueba en portaobjetos o en tubo cuando se analiza con los antígenos febriles homólogos correspondientes.

Antígeno febril	Antisuero de control homólogo
Salmonella O Grupo A	Salmonella Somatic Polyvalent
Salmonella O Grupo B	
Salmonella O Grupo D	
Salmonella O Flagellar a	Salmonella Flagellar Polyvalent
Salmonella O Flagellar b	
Salmonella O Flagellar d	
Brucella abortus	Control positivo de Brucella
Brucella melitensis	
Brucella suis	
Proteus OX19	Proteus Polyvalent Control
Proteus OX2	
Proteus OXK	
Francisella tularensis	Francisella tularensis

2. El control negativo no debe mostrar aglutinación con ningún Febrile Antigens.

La sensibilidad de los Febrile Antigens se determina por la demostración de una reactividad adecuada en la prueba, tanto en portaobjetos como en tubo, según se define en la sección "Resultados" utilizando los antisueros de control febril homólogos correspondientes. La especificidad de los Febrile Antigens se determina al demostrar la falta de reactividad frente a antisueros de control febril no relacionados (heterólogo).

DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

240786 Febrile Antigen Set, un equipo de 11 frascos.

Febrile Antigens

240731	Salmonella O Grupo A Antigen (1-2-12), un frasco de 5 mL.
240732	Salmonella O Grupo B Antigen (1-4-5-12), un frasco de 5 mL.
240734	Salmonella O Grupo D Antigen (9-12) (Typhoid O), un frasco de 5 mL.
240834	Salmonella Flagellar a Antigen, un frasco de 5 mL.
240835	Salmonella Flagellar b Antigen, un frasco de 5 mL.
240785	Salmonella Flagellar d Antigen (Typhoid H), un frasco de 5 mL.
241049	Brucella abortus Antigen, un frasco de 5 mL.
240943	Brucella melitensis Antigen, un frasco de 5 mL.
240944	Brucella suis Antigen, un frasco de 5 mL.
240782	Proteus OX19 Antigen, un frasco de 5 mL.
240783	Proteus OX2 Antigen, un frasco de 5 mL.
240784	Proteus OXK Antigen, un frasco de 5 mL.
241050	Francisella tularensis Antigen, un frasco de 5 mL.

Antisueros de control febril

240941	Salmonella Somatic Polyvalent Antiserum (A,B,D), un frasco de 5 mL.
240942	Salmonella Flagellar Polyvalent Antiserum (a,b,d), un frasco de 5 mL.
240934	Brucella Positive Control Antiserum (AMS), un frasco de 5 mL.
240940	Proteus Polyvalent Antiserum (OXK, OX2,OX19), un frasco de 5 mL.
240939	Francisella tularensis Antiserum, un frasco de 5 mL.
240937	Febrile Antigen Negative Control, un frasco de 5 mL.

BIBLIOGRAFIA: Ver “References” en el texto en inglés.

	Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Vyrobcia / Tillverkare
	Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Vervendbaar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca) / aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden)
	Catalog number / Katalógové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo
	Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Reprezentante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU
	In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik
	Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegränsning
	Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti)
	Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contémo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester
	Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen
	Control / Kontrola / Kontrol / Controle / Kontroll / Kontrolli / Contrôle / Kontrolle / Έλεγχος / Controllo / Kontrolé / Controlo

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663

 BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

BD, BD Logo and Vacutainer are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2004 BD.